DIE VERTEILUNG VON HERPES SIMPLEX VIRUS TYP 1 - UND HERPES SIMPLEX VIRUS TYP 2 – ANTIKÖRPERN IN LUESPOSITIVEN SEREN IM VERGLEICH ZU EINER KONTROLLGRUPPE

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von
ARNIM HAAG
aus Bonn

Bonn 1976

DIE VERTEILUNG VON HERPES SIMPLEX VIRUS TYP 1 - UND HERPES SIMPLEX VIRUS TYP 2 – ANTIKÖRPERN IN LUESPOSITIVEN SEREN IM VERGLEICH ZU EINER KONTROLLGRUPPE

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von
ARNIM HAAG
aus Bonn

Bonn 1976

Angefertigt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. K. E. Schneweis
2. Gutachter: Prof. Dr. med. G. Klingmüller

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie und
Immunologie der Universität Bonn

Direktor: Professor Dr. H. Brandis

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Druck: Richard Schwarzbold, 5305 Witterschlick b. Bonn

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	Einleitung	4
2.	Material	7
3.	Methodik	9
3.1	Auswahl der Seren	9
3.2	Virusgewinnung	9
3.3	Virustitration zur Bestimmung der Gewebekultur-Infektionsdosis (ID_{50})	10
3.4	Prinzip der Typenbestimmung bei HSV-Antikörpern	10
3.5	Ausführung der HSV-Antikörperbestimmung	11
4.	Ergebnisse	13
4.1	Spektrum der positiven Lues-Seroreaktionen	13
4.2	Zuverlässigkeit der Methode zur Typenbestimmung von HSV-Antikörpern	13
4.3	HSV-Antikörpertypen bei Lues-positiven und Kontrollseren	13
5.	Besprechung	16
5.1	Methoden zur HSV-Antikörperbestimmung	16
5.2	Fehlermöglichkeiten bei der Typisierung von HSV-Antikörpern	19
5.3	Seroepidemiologische Korrelationen zwischen den Erkrankungen Herpes genitalis und Syphilis	20
5.4	Bedeutung der Untersuchung im Hinblick auf die Pathogenese des Zervixkarzinoms	21
6.	Zusammenfassung	24
7.	Tabellen und Abbildungen	25
8.	Literaturverzeichnis	33

EINLEITUNG

Eine Infektion mit dem Herpes simplex Virus (HSV) kann sehr verschiedene Krankheitsbilder, von denen die Herpesvirus-Stomatitis, der Herpes labialis, Herpes corneae, Herpes genitalis, das Ekzema herpeticum, die Herpesvirus-Meningitis und -Enzephalitis genannt sein sollen, hervorrufen. Das HSV galt lange Zeit als einheitliche und nicht weiter zu differenzierende Virusart. In serologischen Untersuchungen konnte SCHNEWEIS (1961 und 1962a) jedoch erstmals nachweisen, daß sich HSV-Stämme in zwei Typen, HSV Typ-1 und HSV Typ-2, unterscheiden ließen. Seine Ergebnisse wurden später durch PLUMMER (1964) und PAULS und DOWDLE (1967) bestätigt.

Unabhängig von serologischen Differenzierungsmerkmalen konnten biologische Unterschiede zwischen den beiden HSV-Typen beobachtet werden. Die Herde, die sich nach Verimpfung von HSV Typ-1 bzw. -2 auf der Chorioallantoismembran des Hühnereis entwickelten, waren bei Typ-2 größer (SCHNEWEIS, 1962b, PARKER et al., 1967, NAHMIAS et al., 1968). Verschiedenartige zytopathische Effekte ermöglichten eine Zuordnung der HSV-Stämme zum jeweiligen Typ (SCHNEWEIS, 1962b). Später kamen viele weitere Unterscheidungsmerkmale hinzu (siehe bei SCHULTE-HOLTHAUSEN und SCHNEWEIS, 1975), von denen wohl die Differenzierung der Virus-DNS und der Virus induzierten Thymidinkinasen die wichtigsten sind.

Innerhalb der verschiedenen Krankheitsbilder, die durch das HSV hervorgerufen werden, kommt dem Herpes genitalis eine besondere Bedeutung zu. Unabhängig voneinander fanden SCHNEWEIS (1967) und DOWDLE et al. (1967), daß der Herpes genitalis fast ausschließlich durch HSV Typ-2 hervorgerufen wurde, während der Typ-1 die meisten anderen Manifestationsformen des Virus verursachte. Damit wurden frühere Beobachtungen von LIPSCHÜTZ bestätigt, der schon 1920 aufgrund von klinischen und epidemiologischen Untersuchungen die Ansicht vertrat, daß es sich bei dem Erreger des Herpes genitalis um eine besondere Abart des HSV handeln müsse.

Von ASTRUC (1736) stammt die erste Beschreibung des Herpes genitalis. Das häufig gemeinsame Vorkommen dieses Krankheitsbildes mit venerischen Erkrankungen sowie ein gesteigertes Vorkommen bei Prostituierten, ließ Dermatologen des vorigen Jahrhunderts vermuten, daß der Herpes genitalis venerisch übertragen wird (Literatur siehe bei HUTFIELD, 1966). Besonders in zahlreichen neueren Untersuchungen wird auf einen venerischen Übertragungsmodus des HSV Typ-2 hingewiesen. Abgesehen vom neonatalen Herpes und Jugendlichen mit frühsexuellen Kontakten ist mit einer HSV Typ-2 Durchseuchung nicht vor der Geschlechtsreife zu rechnen (NAHMIAS et al., 1968 u. 1970a, RAWLS et al., 1969). Ein gehäuftes Auftreten von Herpes genitalis und eine stärkere Durchseuchung mit HSV Typ-2 konnte bei Partnerwechsel, Patienten in Kliniken für Geschlechtskrankheiten, Prostituierten, Jugendlichen und Erwachsenen aus ungünstigen sozialen Verhältnissen festgestellt werden (NAHMIAS et al., 1969a, RAWLS et al., 1969 und 1971). Als besonderer Hinweis auf die venerische Übertragung des Herpes genitalis muß eine Häufung von virologisch gesicherten Infektionen mit HSV Typ-2 bei venerisch übertragenen Erkrankungen wie Gonorrhoe, Syphilis, Trichomoniasis, Condylomata acuminata und Pediculosis gewertet werden (Literatur siehe bei JOSEY et al., 1972).

Eine seroepidemiologische Korrelation des Herpes genitalis und der Syphilis wurde bisher nur in einer - im Verlauf der eigenen Untersuchung erschienenen - Arbeit diskutiert. In Seren von Prostituierten konnten DUENAS et al. (1972) häufiger HSV-2 Antikörper nachweisen, wenn diese in der VDRL-Reaktion (Venereal Disease Research Laboratory-Test) positiv waren und der Altersgruppe < 19 Jahre angehörten.

Im Jahre 1968 wurde erstmals ein kausaler Zusammenhang zwischen Herpes genitalis und dem Zervixkarzinom vermutet (JOSEY et al., 1968, RAWLS et al., 1968). Es fiel auf, daß die epidemiologischen Kriterien, die für das Zervikarzinom bekannt waren, denjenigen des Herpes genitalis und venerischer Erkrankungen entsprachen. Bei Kindern, Jungfrauen, Frauen mit Keuschheitsgelübden

ist das Zervixkarzinom sehr selten, bei früher Aufnahme des Geschlechtsverkehrs und Promiskuität im Vergleich zu entsprechenden Kontrollgruppen besonders häufig (ROTKIN, 1973). Eine gesteigerte Zervixkarzinomrate fand sich bei Patientinnen, bei denen aus Anlaß zytologischer Routineuntersuchungen eine Herpes genitalis-Infektion festgestellt wurde (NAIB et al., 1969). Besonders in seroepidemiologischen Untersuchungen wurde ein Zusammenhang zwischen Zervixkarzinom und Herpes genitalis deutlich. In Seren von Zervixkarzinompatientinnen konnten signifikant häufiger HSV Typ-2 Antikörper nachgewiesen werden als in Kontrollseren (Literatur siehe bei SCHNEWEIS, 1974a). Da die Promiskuität für das Zervixkarzinom einen wesentlichen epidemiologischen Faktor darstellt (ROTKIN, 1973), konnte eine Korrelation zwischen Zervixkarzinom und Syphilis ebenfalls vermutet werden. In einigen Untersuchungen wurde eine solche Korrelation auch tatsächlich festgestellt (LEVIN et al., 1942, LOMBARD und POTTER, 1950, ROJEL, 1953).

In der vorliegenden Arbeit sollte - ohne vorherige Auslese einer bestimmten Personengruppe - untersucht werden, wie häufig sich HSV Typ-1 und -2 Antikörper in Seren mit positiven Lues-Reaktionen im Vergleich zu einer Gruppe von negativen Kontrollseren nachweisen lassen. Die Ergebnisse sollten dann in ihrer Bedeutung für den epidemiologischen Zusammenhang zwischen Herpes genitalis und der Syphilis sowie zwischen diesen beiden Erkrankungen und dem Zervixkarzinom diskutiert werden.

2. MATERIAL

Zellkulturen

HEp-2-Zellen (Human Epidermoid) zur Gewinnung der Virusstammpräparationen.
HEF (Human Embryo Fibroblasts) für den Mikroneutralisationstest.

Zellkulturmedium

Eagle Grundlösung in Earl'scher Salzlösung mit Zusatz von 10 % Kälberserum, 5 % fetalem Kälberserum, 2 % einer 2,8 %igen Natriumbicarbonatlösung, 0,05 % Hühnerembryonalextrakt (von fünf 9 Tage alten Embryonen in 100 ml phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS)), 100 E Penizillin und 100 µg Streptomycin pro ml ("Eagle 15").

Virusstämme

Herpes simplex-Virus (HSV) Typ 1, Stamm Thea (SCHNEWEIS, 1962)
Herpes simplex-Virus (HSV) Typ 2, Stamm Haase (SCHNEWEIS, 1962)

Seren

Die in diese Untersuchung einbezogenen Seren wurden aus Seren ausgewählt, die dem Institut für Medizinische Mikrobiologie und Immunologie der Universität Bonn zur Durchführung der Lues-Seroreaktionen zugesandt worden waren.

Brutschrank

CO_2-Brutschrank der Fa. Ehret, Emmendingen-Kollmarsreute.
Das Luft-CO_2-Gemisch enthielt 5 % CO_2.

Roller-Gerät

Roller-Gerät der Fa. Bellco, Vineland, New Jersey, mit Roller-Flaschen 10 x 20 cm.

Mikrodropper

Mikrodropper (0,025 und 0,05 ml) von der Fa. Cooke Engineering Co., Alexandria, Va.

Mikrotiterplatten

Micro Test II Cultures Plates von der Fa. Falcon Plastics, Los Angeles und von der Fa. Cooke Engineering Co., Alexandria, Va.

Mikroskope

Umgekehrtes Mikroskop der Fa. Leitz, Wetzlar, Vergrößerung 10 x 4 und 10 x 10 zum Ablesen des Mikroneutralisationstests. Zur Auswertung der FTA-Tests wurde ein Mikroskop der Fa. Zeiss benutzt, das mit Halogen-Bogenlampe, Interferenzfilter, Dunkelfeld-Ultrakondensor und einem Ölimmersions-Objektiv 40 x (Irisblende 0,6-1,0) ausgerüstet war.

3. METHODIK

3.1 Auswahl der Seren

Mit allen Seren wurden zunächst die sogenannten "unspezifischen Reaktionen", die Cardiolipin-Flockungsreaktion, die Meinicke-Klärungsreaktion, die Cardiolipin-Komplementbindungsreaktion und die sogenannte "Pallida-KBR" nach den Vorschriften, die die Hersteller der Reagenzien angeben, durchgeführt. Seren, die in diesen Reaktionen positiv waren, wurden dann auch mit den sogenannten "spezifischen Methoden", dem fluorescenz-serologischen Treponemen-Antikörpernachweis (FTA 200 und FTA ABS) untersucht. Die Durchführung erfolgte nach den Vorschriften, die den Reagenzien beigegeben waren. In die Gruppe der Lues-positiven Seren wurden nur solche Seren einbezogen, die sich im FTA-ABS als positiv erwiesen. Eine Auswahl der Seren nach Alter und Geschlecht erfolgte nicht.

Als negative Kontrollseren wurden aus dem gleichen Einsendematerial Seren von Patienten ausgewählt, die in Alter und Geschlecht mit den Lues-Seropositiven übereinstimmten und die sich in den "unspezifischen" Reaktionen als negativ erwiesen hatten. Bis zur Durchführung der HSV-Antikörperbestimmung wurden die Seren bei -20° C aufbewahrt.

3.2 Virusgewinnung

HEp-2 Zellkulturen in Rollerflaschen wurden mit HSV Typ-1, Stamm Thea bzw. mit HSV Typ-2, Stamm Haase, inokuliert. Nach Ausbildung eines vollständigen cytophatischen Effekts (CPE), der sich nach 2 Tagen einstellte, wurden die Zellen (10^{8} pro Flasche) in 5 ml Magermilchmedium (ein Teil Eagle 15 und ein Teil Magermilch) durch Ultraschall aufgeschlossen und bei -70° C aufbewahrt. Für die gesamte Untersuchung wurde die gleiche Virus-Stammpräparation von HSV Typ-1 und -2 benutzt.

3.3 Virustitration zur Bestimmung der ID_{50}

Von den beiden zu untersuchenden Virussuspensionen wurden Verdünnungsreihen in log_{10}-Stufen mit Eagle-15-Medium vorbereitet. Die Mikrotiterplatten, die 8 Reihen zu je 12 Höhlungen besaßen, wurden mit einem Mikrodropper zunächst mit 0,025 ml Eagle-15-Medium beschickt. Ausgehend von der höchsten Virusverdünnung kam zu den Höhlungen jeder Reihe 0,025 ml Virussuspension pro Verdünnungsstufe hinzu. Hierbei waren 6 Vertiefungen für HSV-Suspensionen Typ-1, die übrigen 6 Vertiefungen für HSV-Suspensionen Typ-2 bei gleicher Verdünnungsstufe vorgesehen. Anschließend wurden 0,05 ml einer Suspension von menschlichen embryonalen Fibroblasten (HEF) - ca. 10^6 Zellen pro ml in Eagle-15 - pro Höhlung zugesetzt. Als Zellkontrolle diente eine Reihe von 6 Vertiefungen mit 0,05 ml Zellsuspension und 0,05 ml Eagle-15-Medium. Die Platten wurden mit einer Klebefolie verschlossen, bei 36° C im CO_2-Brutschrank inkubiert und nach zwei Tagen mikroskopisch durchgemustert. Die Beurteilung der Titerhöhe erfolgte nach HEF-ID_{50}. Als eine HEF-ID_{50} galt die infektiöse Dosis einer Virussuspension, die bei 50 % der Zellkulturen der Mikrotiterplatte einen CPE verursachte. Die Berechnung erfolgte nach der Methode von REED und MUENCH (1938). Virustiterangaben bezogen sich immer auf 0,025 ml Volumina.

3.4 Prinzip der HSV-Antikörperbestimmung

Zum Nachweis von Antikörpern gegen die beiden HSV Typen in Kontroll- und Testseren wurde die Neutralisationstechnik angewandt. Die bei dieser Methode allgemein verwendete Virus-Testdosis von 100 ID_{50}/Volumeneinheit zur Neutralisation der im Serum vorhandenen Antikörper, wurde bei jedem Versuch neu überprüft. Abweichungen der Virussuspensionen vom theoretischen Titer (100 ID_{50}/Volumeneinheit) konnten ausgeglichen werden, indem auf einen quantitativen Neutralisationstest zurückgegriffen wurde, den FAZEKAS DE ST. GROTH (1961) für die Neutralisation von Influenzavirus beschrieb. Bei diesem Test wird die neutralisierende Fähigkeit eines Antiserums in pN-Werten ausgedrückt

(pN = Neutralization Potency), wobei die im Test effektiv neutralisierte Virusdosis rechnerisch berücksichtigt wird. Die Berechnung der Neutralisationsexponenten (pN) gegen HSV-1 und HSV-2 bei Lues-positiven und negativen Seren erfolgte unter Berücksichtigung der Methode von PAULS und DOWDLE (1967), die den quantitativen Neutralisationstest in Verbindung mit der Mikro-Zellkultur-Technik (SEVER, 1962, ROSENBAUM, 1963) beim Herpes-simplex-Virus anwandten. Die pN-Berechnung in der eigenen Untersuchung erfolgte nach der Formel

$$pN = \log (c\text{-}o{,}16) + t + 0{,}30$$

wobei c = log Virustiter im Testsystem, t = log Serumtiter, 0,16 = Konstante für die Umwandlung von ID_{50} in 1 infektiöse Einheit, 0,30 = Konstante für die Verdünnung des Serums in der Virussuspension darstellen.

Während PAULS und DOWDLE (1967) die Methode benutzten, um mit bekannten Antiseren gegen HSV Typ-1 bzw. Typ-2 unbekannte HSV-Stämme zu typisieren, suchten NAHMIAS et al. (1969b und 1970a) den Typ der im Serum vorhandenen Antikörper zu bestimmen. Sie stellten fest, daß die pN-Differenz (Δ pN = pN Typ 1 - pN Typ 2) Rückschlüsse auf den Typ der im Serum vorliegenden Antikörper zuläßt. Aufgrund von Ergebnissen mit Kaninchen-Immunseren (NAHMIAS et al., 1969b) und mit Seren besonders ausgewählter Patienten (NAHMIAS et al., 1970a) ließ eine pN-Differenz unter 0,05 auf das Vorhandensein von Typ-2 Antikörpern schließen. Seren mit pN-Differenzen $\geq$ 0,50 enthielten offenbar nur HSV-1 Antikörper, während die sogenannten intermediären Seren (pN-Differenz zwischen 0,50 und 0,05) HSV-1 und HSV-2 Antikörper nebeneinander enthielten.

3.5 Ausführung der HSV-Antikörperbestimmung

Die Seren wurden in einer geometrischen Reihe mit dem Faktor 2, ausgehend von einer Anfangsverdünnung von 1 zu 10 bis zur Verdünnungsstufe 1 zu 320, mit Zellkulturmedium (Eagle-15) titriert. Von jeder Verdünnung wurden 12 Höhlungen einer Mikrotiterplatte mit 0,025 ml beschickt. Zu 6 Höhlungen jeder Serumverdünnung

kam 0,025 ml einer Suspension von 100 ID_{50} HSV-1 (Stamm Thea), zu den übrigen 6 Höhlungen entsprechend 100 ID_{50} HSV-2 (Stamm Haase). Die 100 ID_{50}/0,025 ml war in Vorversuchen (siehe Kapitel 3.3) durch Virustitration bestimmt worden.

Nach einer Inkubation für 1 Stunde bei 36° C im CO_2-Brutschrank wurde 0,05 ml einer Suspension von menschlichen embryonalen Fibroblasten zugetropft, die Platte mit einer Klebefolie verschlossen und 2 Tage bei 36° C im CO_2-Inkubator bebrütet. Nach dieser Zeit war ein gleichmäßiger Zellrasen ausgewachsen und restliche Virusaktivität äußerte sich durch einen CPE, der im umgekehrten Mikroskop bei den oben angegebenen Vergrößerungen abgelesen wurde. Als neutralisierender Titer für HSV Typ-1 bzw. Typ-2 wurde diejenige Serumverdünnung gewertet, bei der in 50 % der Ansätze der CPE ausblieb. Die Berechnung erfolgte nach REED und MUENCH (1938).

Bei jedem Versuch wurde die Aktivität der verwendeten Virussuspension durch eine Kontrolltitration überprüft, indem Titrationen der Virus-Testdosis in Potenzen von 10 mitgeführt wurden. Als Zellkontrolle diente wiederum eine Reihe von 6 Vertiefungen mit 0,05 ml Zellsuspension und 0,05 ml Eagle-15 Medium. Um möglichst gleiche Bedingungen einzuhalten, wurde für sämtliche Versuche die gleiche Virus-Stammpräparation von HSV Typ-1 und HSV Typ-2 benutzt.

4. ERGEBNISSE

4.1 Spektrum der positiven Lues-Seroreaktionen

Die Tab. 1 zeigt, daß 52 Seren in allen durchgeführten Lues-Seroreaktionen positiv waren. Die Aufgliederung der übrigen Seren ist ebenfalls aus der Tabelle ersichtlich. Von 34 Seren, die sich im FTA 200-Test sowie im FTA ABS-Test als positiv erwiesen, waren 14 Seren in einer, 12 Seren in zwei und 8 Seren in drei der übrigen Seroreaktionen negativ. 14 Seren, die im FTA 200 negativ reagierten, waren - außer im FTA ABS - auch noch in anderen Reaktionen positiv. Alle 100 Seren, die als Lues-seropositiv in die Untersuchung einbezogen wurden, waren im FTA ABS-Test positiv.

4.2 Zuverlässigkeit der Methode zur HSV-Antikörperbestimmung

5 Seren mit verschiedenen pN-Differenzen wurden je 5mal untersucht. Das Ergebnis ist in Tab. 3 zusammengefaßt. Die mittlere Abweichung beträgt durchschnittlich 0,09. Einzelne Ergebnisse (0034/5 und 4258/1) weichen aber zum Teil stark von den anderen Untersuchungen ab.

4.3 HSV-Antikörper bei Lues- und Kontrollseren

Die Abb. 1, bei der zur Markierung eine Trennlinie bei einer pN-Differenz von 0,50 eingezeichnet ist, verdeutlicht, daß sich bei 53 % der Lues-positiven Seren Δ pN-Werte $< 0{,}50$ fanden, gegenüber 28 % bei den Lues-negativen Seren. 7 % der Seren aus der Untersuchungsgruppe und 2 % der Seren aus der Kontrollgruppe zeigten pN-Differenzen $< 0{,}05$. Diese Ergebnisse wurden durch die Berechnung der Mittelwerte bestätigt (Tab. 4). Die pN-Werte gegenüber HSV 1 in den Untersuchungs- und Kontrollgruppen waren ähnlich, Lues-positive Seren zeigten aber höhere HSV 2-Titer ($\bar{m}$ pN = 2,24) als die Kontrollgruppe ($\bar{m}$ pN = 2,09). Somit lag der Wert für die mittlere pN-Differenz bei den Lues-positiven Seren ($\bar{m}$ Δ pN = +0,47) niedriger als bei den Kontrollseren ($\bar{m}$ Δ pN = +0,57). Die Unterschiede sind signifikant. Weiterhin

wird deutlich, daß Patienten ohne HSV-Antikörper (weder Typ 1- noch Typ 2-Antikörper) in der Kontrollgruppe mit 21 % sehr viel häufiger vorkommen als in der Untersuchungsgruppe mit nur 3 %. Auch dieser Unterschied ist signifikant.

In Tab. 5 sind die Ergebnisse der beiden Untersuchungsgruppen für Männer und Frauen getrennt aufgeführt. In der weiblichen Kontrollgruppe fanden sich fast genauso häufig Δ pN-Differenzen $< 0{,}50$ (12 von 45 Patientinnen entsprechend 27 %) wie in der männlichen Kontrollgruppe (16 von 55 Patienten entsprechend 29 %). Bei 26 von 45 Lues-seropositiven Frauen (58 %) wurden HSV 2-Antikörper festgestellt, jedoch nur bei 27 von 55 Lues-seropositiven Männern (49 %). In Seren der weiblichen Kontrollgruppe ließen sich häufiger pN-Differenzen $\geq 0{,}50$ nachweisen (22 von 45 entsprechend 49 %) als in der weiblichen seropositiven Gruppe (17 von 45 entsprechend 38 %). Bei der Gegenüberstellung der männlichen und weiblichen Lues-seropositiven Gruppen zeigten Seren von Männern häufiger pN-Differenzen $\geq 0{,}50$ (27 von 55 Seren entsprechend 49 %) als von Frauen (17 von 45 Seren entsprechend 38 %) (siehe Tab. 2).

Die Titer gegenüber HSV 1 in den weiblichen und männlichen Kontroll- und Untersuchungsgruppen differierten nicht stark. Lues-positive Seren von Frauen hatten höhere HSV 2-Titer ($\bar{m}$ pN = 2,31) als die weibliche Kontrollgruppe ($\bar{m}$ pN = 2,09). Der HSV 2-Titer Lues-positiver Seren von Männern ($\bar{m}$ pN = 2,22) zeigte gegenüber der männlichen Kontrollgruppe ($\bar{m}$ pN = 2,08) einen weniger deutlichen Unterschied. Demnach wichen auch die mittleren pN-Differenzen in den weiblichen Lues-positiven Seren ($\bar{m}$ Δ pN = +0,46) und den Seren der entsprechenden Kontrollgruppe ($\bar{m}$ Δ pN = +0,60) stärker voneinander ab als bei den männlichen Vergleichsgruppen ($\bar{m}$ pN-Differenz für Lues-positive Seren = +0,48, mittlere pN-Differenz für die Kontrollgruppe = +0,55).

Die Aufgliederung der Ergebnisse nach Alter und Geschlecht sind in Tab. 2 dargestellt. 55 % der untersuchten Seren stammten von Männern, 45 % von Frauen. Es fällt auf, daß bei den Frauen in

beiden Gruppen mit zunehmendem Alter Typ 2-Antikörper häufiger auftraten. In der Altersgruppe jünger als 25 Jahre ließen sich bei 3 von 7 der Lues-positiven Seren dagegen nur bei 1 von 7 der Kontrollseren Δ pN-Differenzen $<$ 0,50 nachweisen. In der Altersgruppe älter 44 Jahre konnten bei 11 von 16 Seren der Untersuchungsgruppe aber nur bei 7 von 16 der Kontrollgruppe HSV 2-Antikörper festgestellt werden (Tab. 6). Aus Tab. 2 geht ebenfalls hervor, daß mit zunehmendem Alter aller Patienten in Seren beider Gruppen nahezu immer HSV-Antikörper vorlagen. Bei Patienten der Lues-seropositiven Gruppe, die 55 Jahre und älter waren, fand sich niemand ohne HSV-Antikörper. Von den 21 Seren der Kontrollgruppe ohne HSV-Antikörper fand sich in dieser Altersklasse lediglich eines.

5. BESPRECHUNG

5.1 Methoden zur HSV-Antikörperbestimmung

Die ersten serologischen Untersuchungen, die die Verteilung von HSV-Antikörpern in Abhängigkeit vom Alter und sozioökonomischen Milieu darzustellen versuchten, liegen nahezu 50 Jahre zurück. Meist wurden Neutralisations- und Komplementbindungstests angewandt (siehe bei SMITH et al., 1967). Die Typendifferenzen des HSV wurden dabei nicht berücksichtigt. Erst 1967 wurde mit dem Mikroneutralisationstest und der pN-Berechnung von PAULS und DOWDLE eine Methode entwickelt, um die Antikörper gegen die beiden HSV-Typen zu differenzieren. Ihre praktische Anwendung fand diese Methode in seroepidemiologischen Untersuchungen bei Patienten mit Zervix-Karzinom bzw. Herpes genitalis (NAHMIAS et al. 1970a und 1970b).
Andere Untersuchungen, die das gleiche Ziel anstrebten, wurden mit dem kinetischen Neutralisationstest durchgeführt (RAWLS et al., 1968, 1969, 1970). Durch den Plaque-Reduktionstest konnten ebenfalls Antikörper gegen die beiden HSV-Typen unterschieden werden (RAWLS et al., 1970).

Der passive Haemagglutinationstest von FUCCILLO et al. (1970) und BERNSTEIN et al. (1971) diente ebenfalls der HSV-Antikörper-Typendifferenzierung. ROYSTON et al. (1970a und 1970b) benutzten in ihren Neutralisationstesten ein Antigengemisch von einem syncytialen HSV 1-Stamm mit einem HSV 2-Stamm um die Antikörper-Typen zu unterscheiden.

Die Schwierigkeit bei der Bestimmung der HSV-Antikörpertypen ist in der Kreuzreaktion der beiden HSV-Typen begründet. Dies bedarf einer näheren Erläuterung. Die beiden HSV-Typen sind eng miteinander verwandt. Neben vielen gemeinsamen Antigenen besitzen sie offenbar nur wenige typenspezifische Antigene (SCHNEWEIS und NAHMIAS, 1971). In den serologischen Untersuchungen, die SCHNEWEIS (1962a) zur Unterscheidung der beiden HSV-Stämme durchführte, konnten Typendifferenzen nur mit Antiseren von Typ 1-Stämmen nachgewiesen werden, mit Antiseren von Typ 2-Stämmen ließ sich keine Differenzierung treffen. In Tierversuchen ge-

wonnene Immunseren gegen HSV Typ-1 neutralisieren HSV Typ-1 um 2 bis 3 Verdünnungsstufen (0,6-0,9 $\log_{10}$) besser als HSV Typ-2. Typ-2 Antiseren neutralisieren dagegen beide HSV-Typen nahezu gleich gut (SCHNEWEIS, 1962a, PAULS und DOWDLE, 1967). Bei Patienten-Seren, in denen nach HSV Typ-2 Antikörpern gesucht werden soll, ergibt sich ein zusätzliches Problem. Da die Durchseuchung mit dem oralen HSV-Typ bereits im frühen Erwachsenenalter 70 % beträgt (NAHMIAS et al., 1970a, PETERSEN 1972), mußte man in den meisten Erwachsenenseren Antikörper gegen HSV Typ-1 erwarten. Wenn außerdem Antikörper gegen HSV Typ-2 vorkommen, so lassen sich diese nur dann nachweisen, wenn ihr Titer nicht wesentlich unter dem Titer der HSV-1 Antikörper liegt. HSV-Typ-2 Antikörper können also vorhanden sein, wenn ihr Nachweis wegen eines erhöhten HSV-1 Antikörpertiters mißlingt.

Sodann ergibt sich die Frage, von welcher Grenze an Antikörper gegen HSV Typ-2 als nachgewiesen gelten sollen. Während sich mit einem Paar von tierexperimentellen Immunseren bei der Typisierung von HSV-Virusstämmen eine klare Grenzziehung ergibt und somit fast alle HSV-Virusstämme eindeutig als HSV Typ-1 oder HSV Typ-2 eingeordnet werden können (SCHNEWEIS 1974a), ergibt sich bei der Variationsbreite, die beim Vergleich vieler Patientenseren gegeben ist, ein kontinuierlicher Übergang von einer eindeutigen HSV Typ-1 Antikörperreaktion bis zu einer eindeutigen HSV Typ-2 Antikörperreaktion (Abb. 1), je nachdem, ob der Patient vor allem Antikörper gegen gemeinsame oder gegen typenspezifische Antigene gebildet hat. Bei Untersuchungen mit Immunseren von Kaninchen, die zunächst mit HSV Typ-1 und später mit HSV Typ-2 zusätzlich infiziert wurden (NAHMIAS et al., 1969b), sowie mit Seren von Neugeborenen und Kindern (NAHMIAS et al., 1969c) und Patienten mit einer Herpes genitalis-Infektion (NAHMIAS et al., 1970a) ergab sich, daß ein Serum dann HSV-2 Antikörper enthielt, wenn es HSV-1 höchstens 1,5 Titerstufen besser neutralisierte als HSV-2 (pN HSV-1 - pN HSV-2 $\leq$ 0,50).

In anderen Untersuchungen (RAWLS et al., 1970, PETERSEN et al., 1972) wurden die Quotienten der Antikörper-Titerlogarithmen als

Bemessungsgrundlage gewählt. Um die Zugehörigkeit der Antikörper zu dem einen oder anderen HSV-Typ zu bestimmen, formulierten sie folgendermaßen:

$$\frac{\log_{10} \text{Typ-2 Antikörper im Serum}}{\log_{10} \text{Typ-1 Antikörper im Serum}} \times 100 = \text{II/I Index}$$

War der Index $\geq$ 85, so sprach dies für das Vorliegen von HSV-2 Antikörpern, war er $<$ 85 für das Vorliegen von HSV-1 Antikörpern. Der II/I Index führt jedoch zu verschiedenen Ergebnissen, wenn die Antikörpertiter gegen beide HSV-Typen zwar im gleichen Verhältnis zueinander stehen, aber die Antikörper gegen beide Typen mit niedrigeren oder höheren Titern vorliegen. In einem Serum mit einem HSV-1 Antikörpertiter von 1:40 und einem HSV-2 Antikörpertiter von 1:20 errechnet sich ein II/I Index von 81. HSV-1 Antikörpertiter von 1:400 und HSV-2 Antikörpertiter von 1:200 ergeben aber einen II/I Index von 88. Obwohl die beiden Antikörpertiter im gleichen Verhältnis zueinander stehen, muß das Serum mit dem höheren Antikörpertiter einem anderen HSV-Typenbereich zugeordnet werden. Noch nachteiliger wirkt sich aus, daß Abweichungen der im Mikroneutralisationstest verwendeten Virussuspensionen vom theoretischen Titer beim Vergleich der Titerlogarithmen nicht berücksichtigt werden. Es ist der Vorteil der pN-Berechnung, Schwankungen im Virustiter auszugleichen. Bei einem HSV-1 Antikörpertiter von 1:40, einem HSV-2 Antikörpertiter von 1:20 und einem definierten HSV-1 Virustiter soll sich ein II/I Index von 81 ergeben. Eine Erhöhung des HSV-1 Virustiter um 0,50 $\log_{10}$ bewirkt jedoch eine Verminderung des HSV-1 Antikörpertiters auf 1:27 (siehe auch bei SCHNEWEIS, 1962c). Dies ergibt für das untersuchte Serum bei einem II/I Index von 91 eine Verschiebung in einen anderen HSV-Typenbereich.

Beim Festlegen einer Grenze, von der an neben Antikörpern gegen HSV Typ-1 auch HSV-2 Antikörper bzw. nur HSV-2 Antikörper vorliegen sollen, muß also beachtet werden, daß von beiden Virustypen im Test die gleiche Infektionsdosis vorgegeben wurde und geringe Schwankungen, die sich durch die notwendige Verdünnung der

Virus-Stammpräparationen nicht vermeiden lassen, rechnerisch ausgeglichen werden.

5.2 Fehlermöglichkeiten bei der Typisierung von HSV-Antikörpern

In jeder Viruspräparation sind auch Partikel von nicht infektiösem Virus enthalten, die ebenso wie aktives Virus neutralisierende Antikörper binden können (SCHNEWEIS 1962a). Finden im Verlauf einer Untersuchungsreihe verschiedene Viruspräparationen mit wechselnden Mengen an aktivem Virus Verwendung, werden jeweils mehr oder weniger Antikörper durch inaktives Virus von der Neutralisation mit aktivem Virus ausgeschlossen. Die in einer Untersuchungsreihe verwendeten Viruspräparationen müßten den gleichen Anteil an immunologisch aktivem, nicht infektiösem Virus enthalten. Die Bestimmung dieses Anteils liegt durch elektronenmikroskopische Auszählung der kompletten umhüllten Viruspartikel theoretisch im Bereich des Möglichen, ist jedoch in der Praxis nur schwer zu realisieren. In der eigenen Arbeit konnte dieses Problem umgangen werden, indem für sämtliche Versuchsansätze die gleichen Virus-Stammpräparationen verwendet wurden, die allerdings im Verlauf der Untersuchungen - und zwar gleichermaßen bei beiden Typen - einen geringen Titerverlust von 0,8 $\log_{10}$ an aktivem Virus erlitten.

Eine weitere Ungenauigkeit bei der Bestimmung der Antikörper-Typenzugehörigkeit ergab sich bei mehrmaliger Überprüfung einzelner Ergebnisse. In welchem Maße die Ergebnisse unter gleichen Bedingungen reproduzierbar waren, zeigt Tab. 3. Da immerhin recht erhebliche Schwankungen vorkommen, ist es verständlich, daß bei einer Gruppierung von untersuchten Seren in Seren mit hoher und niedriger pN-Differenz ein Serum bei wiederholter Untersuchung verschiedenen Gruppen zuzuteilen war.

Die angeführten Probleme bei der Typisierung von HSV-Antikörpern zeigen, daß eine Antikörper-Typisierung im Einzelfall nur dann zu einem klaren Ergebnis führt, wenn das Serum bei wiederholter Untersuchung eindeutige Typ-2 Reaktionen gibt. Bei den meisten Erwachsenen-Seren wird es offen bleiben müssen, ob sie HSV Typ-2 Antikörper enthalten oder nicht. Die derzeitigen Methoden zur

HSV-Antikörper-Typisierung sind daher für die klinische Serodiagnostik ungeeignet.

Bei seroepidemiologischen Untersuchungen aber, bei denen zwei Personengruppen untereinander verglichen werden, fallen die Fehlermöglichkeiten der Tests beiden Gruppen gleichermaßen zu. Allerdings erscheint auch hierbei die Zuordnung mancher Seren in den Grenzbereichen mehr oder weniger willkürlich, so daß die Gegenüberstellung der mittleren pN-Werte und der pN-Differenzen wohl eine bessere Bewertungsgrundlage darstellt, als die Anzahl der Seren im HSV Typ-1- bzw. Typ-2 Bereich.

5.3 Seroepidemiologische Korrelationen zwischen den Erkrankungen Herpes genitalis und Syphilis

Die eigene Arbeit bestätigt mit serologischer Methodik die klinischen und epidemiologischen Untersuchungen früherer Dermatologen (Literatur siehe bei HUTFIELD, 1966), daß der Herpes genitalis häufig mit der Syphilis korreliert. Die beiden Erkrankungen sind zwar nicht kausal miteinander verknüpft, haben aber eine gemeinsame epidemiologische Grundlage, die venerische Übertragung. Zu einem grundsätzlich gleichen Ergebnis gelangten DUENAS et al. (1972). Sie untersuchten VDRL-positive und negative Seren von Prostituierten. In den VDRL-positiven Seren von 23 Prostituierten im Alter von $<$ 19 Jahren wiesen sie in 70 % der Fälle HSV-2 Antikörper nach, in VDRL-negativen Seren der gleichen Personengruppe nur in 39 % der Fälle. In der Altersgruppe jünger als 25 Jahre der eigenen Untersuchung waren bei 3 von 7 Lues-positiven Seren bzw. bei 1 von 7 Lues-negativen Seren HSV-2 Antikörper nachzuweisen. Bei Prostituierten der Altersgruppe $\geq$ 40 Jahre konnten DUENAS et al. (1972) keinen wesentlichen Unterschied zwischen den beiden Personengruppen feststellen. Sie wiesen nahezu gleich häufig HSV-2 Antikörper in VDRL-positiven (in 55 % der Fälle) und VDRL-negativen Seren (in 57 % der Fälle) nach, ganz im Gegensatz zu den eigenen Beobachtungen, bei denen sich Unterschiede in der Altersgruppe $\geq$ 45 Jahre innerhalb der Versuchsgruppen zeigten. Bei 11 von 16 Frauen mit Lues-positiven Seren wurden HSV-2 Antikörper nachgewiesen, bei der entsprechenden Kon-

trollgruppe nur in 7 von 16 Fällen. Durch die Auslese der Versuchsgruppen bei DUENAS et al. (1972) werden Unterschiede zur eigenen Untersuchung verständlich. Bei älteren Prostituierten konnten sich Unterschiede innerhalb der Versuchsgruppen wohl deshalb nicht zeigen, weil die Promiskuität bei älteren Prostituierten - unabhängig von einer luetischen Infektion - bereits zu einer weitgehenden Durchseuchung mit Herpes genitalis geführt hat, eine Begebenheit, die für das eigene Patientengut nicht zutraf.

In sozio-ökonomischen Studien ließen sich in Seren von Versuchspersonen aus ungünstigen sozialen Verhältnissen im Vergleich zu sozial besser Gestellten häufiger HSV-2 Antikörper nachweisen (NAHMIAS et al., 1970a). Versuchsgruppen aus verschiedenen sozialen Schichten unterscheiden sich jedoch nicht nur in Bezug auf eine Durchseuchung mit HSV-2, sondern auch in Bezug auf eine Durchseuchung mit HSV überhaupt. Dies beruht offenbar auf einem höheren Infektionsrisiko der dichter zusammenlebenden Bevölkerung mit HSV-1 während der Kindheit (Literatur siehe bei SMITH et al., 1967). Es ist verständlich, daß sich eine ähnliche epidemiologische Situation auch in den eigenen Versuchsgruppen widerspiegeln mußte und somit Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen in Bezug auf die Durchseuchung mit HSV nicht nur auf die unterschiedliche Durchseuchung mit HSV Typ-2 sondern auch auf die unterschiedliche Durchseuchung mit HSV Typ-1 zurückzuführen waren. Dafür spricht, daß sich bei 21 % der Kontrollseren, aber nur bei 3 % der Lues-positiven Seren keine HSV-Antikörper nachweisen ließen, daß dies jedoch nur für die jüngeren Altersklassen galt. In den höheren Altersgruppierungen war die Durchseuchung mit HSV soweit fortgeschritten, daß Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen nicht mehr feststellbar waren.

5.4 Bedeutung der Untersuchung im Hinblick auf die Pathogenese des Zervixkarzinoms

In seroepidemiologischen und cytopathologischen Untersuchungen der letzten Jahre wurde häufig eine Korrelation zwischen Herpes genitalis und dem Zervixkarzinom nachgewiesen (JOSEY et al., 1968, RAWLS et al., 1968 und 1969, NAIB et al., 1969, NAHMIAS

et al., 1970b). Da die Promiskuität für das Zervix-Karzinom einen wesentlichen epidemiologischen Faktor darstellt (ROTKIN, 1973), war auch eine Koinzidenz zwischen dem Zervix-Karzinom und der Syphilis zu erwarten. Eine Korrelation zwischen diesen beiden Erkrankungen konnte von einigen Autoren tatsächlich festgestellt werden. BELOTE et al. (1931) und HARDING (1942) konnten bei 15 % ihrer Zervix-Karzinom-Patientinnen Lues-positive Seroreaktionen nachweisen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen LEVIN et al. (1942), LAITINEN (1945), LOMBARD und POTTER (1950) und ROJEL (1953). In einigen Untersuchungen wurde vermutet, daß die Syphilis die Entstehung eines Zervix-Karzinoms begünstige (BELOTE et al., 1931, LAITINEN, 1945). ROYSTON und AURELIAN (1970b) konnten jedoch keine Korrelation zwischen den beiden Erkrankungen feststellen. Immerhin scheinen die drei Erkrankungen - Syphilis, Herpes genitalis und Zervix-Karzinom - über einen gemeinsamen epidemiologischen Faktor, die Promiskuität, miteinander verbunden zu sein (Abb. 2). Von den drei Korrelationen sind die beiden seroepidemiologisch ermittelten zwischen Zervix-Karzinom und Herpes genitalis einerseits und Syphilis und Herpes genitalis andererseits vergleichbar, da bei den Untersuchungen die gleiche Methode angewendet wurde. Würde sich beim Vergleich eine stärkere Korrelation des Herpes genitalis mit dem Zervix-Karzinom als mit der Syphilis ergeben, so wäre dies als Hinweis dafür zu werten, daß außer der Gemeinschaftskorrelation Promiskuität ein weiterer, eventuell kausaler Faktor das Zervix-Karzinom mit dem Herpes genitalis verbindet.

Wenn hier ein Vergleich der eigenen Ergebnisse mit denen von NAHMIAS et al. (1970b) zulässig sein soll und außerdem der von NAHMIAS et al. ermittelte Grenzwert von Δ pN $\leq$ 0,50 zugrunde gelegt werden soll, ergibt sich eine stärkere Korrelation des Herpes genitalis mit dem Zervix-Karzinom als mit der Syphilis. Bei 69 von 90 (76 %) der von NAHMIAS et al. (1970b) untersuchten Zervix-Karzinom-Patientinnen konnten HSV-2 Antikörper nachgewiesen werden, jedoch nur bei 26 von 45 (58 %) der hier untersuchten Frauen mit Lues-positiven Seren.

Inzwischen liegen Untersuchungen bei Zervix-Karzinom-Patientinnen aus dem gleichen Labor vor, in dem die eigenen Untersuchungen

durchgeführt wurden. Auch diese Ergebnisse zeigen höhere HSV-2 Antikörpertiter und niedrigere Δ pN-Werte bei Zervix-Karzinom-Patientinnen im Vergleich zu Lues-seropositiven Frauen (SCHNEWEIS et al., 1974b). Der Nachweis einer kausalen Korrelation zwischen Herpes genitalis und Zervix-Karzinom ist damit aber noch nicht erbracht. Wenn die geweblichen Veränderungen beim Zervix-Karzinom die Haftung und Ausbreitung einer HSV Typ-2 Infektion begünstigen, so würde dies zu den gleichen seroepidemiologischen Ergebnissen führen. Immerhin muß das Herpes simplex Virus zu den Viren mit onkogenen Potenzen gerechnet werden. Der tierexperimentelle Nachweis von onkogenen Potenzen des HSV Typ-2 (NAHMIAS et al., 1971, MUNOZ, 1973) sowie die Transformation von Hamsterzellen durch HSV Typ-2 in vitro zu Tumorzellen (DUFF et al., 1971) rechtfertigen es deshalb, einen kausalen Zusammenhang zwischen dem Zervix-Karzinom und dem Herpes genitalis zu erwägen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

100 Lues-positive und 100 Lues-negative Seren wurden im Mikroneutralisationstest mit Herpes simplex Virus Typ 1 (HSV-1) und Typ 2 (HSV-2) untersucht. 55 % der Seren stammten von Männern und 45 % von Frauen. Während sich bei den beiden Versuchsgruppen die Antikörper-Titer gegenüber HSV-1 nicht unterschieden, ergaben die Seren von Lues-seropositiven Patienten höhere Titer gegenüber HSV-2 als die Seren der Lues-seronegativen Patienten. Bei Berücksichtigung der Differenz der Titerlogarithmen (log Titer HSV 1 - log Titer HSV 2) ergaben dementsprechend 53 % der Lues-positiven Seren eine Differenz $< 0{,}5$, im Vergleich zu 28 % der Lues-negativen Seren. Die seroepidemiologische Korrelation zwischen den beiden Erkrankungen kann als Ausdruck der venerischen Übertragung des HSV-2 gewertet werden.

HSV-Antikörper beider Typen fehlten in den Lues-negativen Seren häufiger (in 21 % der Fälle) als in den Lues-positiven Seren (in 3 % der Fälle). Diese Differenz muß zum Teil auf den verschiedenen Durchseuchungsgrad mit HSV-1 bei Personengruppen aus unterschiedlichen sozio-ökonomischen Verhältnissen zurückgeführt werden.

Die Ergebnisse wurden in ihrer Bedeutung für den epidemiologischen Zusammenhang zwischen Herpes genitalis und der Syphilis sowie zwischen diesen beiden Erkrankungen und dem Zervixkarzinom diskutiert.

7. TABELLEN UND ABBILDUNGEN

Tab. 1: Ausfall der Lues-Seroreaktionen bei 100 Lues-positiven Seren

Anzahl d. Seren	Card. KBR	"Pallida" KBR	Card. Fl.	MKR II	FTA 200	FTA ABS
52	+	+	+	+	+	+
6	-	+	+	+	+	+
5	+	+	+	-	+	+
3	+	-	+	+	+	+
9	-	+	+	-	+	+
1	-	-	+	+	+	+
1	+	-	+	-	+	+
1	+	-	-	+	+	+
4	-	+	-	-	+	+
4	-	-	+	-	+	+
6	+	+	+	+	-	+
2	-	+	+	+	-	+
1	+	-	+	+	-	+
1	+	+	+	-	-	+
4	-	+	+	-	-	+

Card. KBR = Cardiolipin - Komplementbindungsreaktion
Card. Fl. = Cardiolipin - Flockungsreaktion
MKR II = Meinicke - Klärungsreaktion II

Tab. 2: Übersicht der Versuchsergebnisse unter Berücksichtigung von Geschlecht und Alter

( ) Anzahl der Seren mit Δ pN < 0,05

[ ] Anzahl der Seren ohne HSV-Antikörper

	Lues Seroreaktionen							
	positiv				negativ			
	Geschlecht							
	männlich		weiblich		männlich		weiblich	
	Δ pN							
Altersgruppe	< 0,5	≥ 0,5	< 0,5	≥ 0,5	< 0,5	≥ 0,5	< 0,5	≥ 0,5
15-24 J.	8 (1)	6	3 (1)	4	5	9 [3]	1	6 [3]
25-34 J.	5	10	6 (1)	5 [2]	5 (1)	10 [1]	2	9 [3]
35-44 J.	7 (1)	4	6	5	4	7 [2]	2	9 [3]
45-54 J.	6 (1)	4 [1]	4	2	2 (1)	8 [4]	2	4 [1]
55-64 J.	0	3	4 (1)	2	0	3	3	3
65 J. u. älter	1	1	3 (1)	1	0	2	2	2 [1]
ohne Altersang.	0	0	0	0	0	0	0	0
gesamt:	27 (3)	28 [1]	26 (4)	19 [2]	16 (2)	39 [10]	12	33 [11]

Tab. 3: Fehlerbreite bei der Herpesvirus-Antikörper-Typisierung im Mikro-Neutralisationstest

Serum-Nr.	p_n-Differenzen im Versuch Nr.						
	1	2	3	4	5	m	
0034	+0,72	+0,64	+0,72	+0,75	+0,54	+0,67	±0,085
5918	+0,53	+0,29	+0,50	+0,48	+0,43	+0,44	±0,094
5766	+0,31	+0,48	+0,49	+0,46	+0,36	+0,42	±0,085
4258	±0,00	-0,30	-0,39	-0,38	-0,34	-0,28	±0,161
6219	-0,29	-0,30	-0,42	-0,31	-0,29	-0,32	±0,055

Tab. 4

Antikörper gegen Herpes simplex Virus Typ 1 und Typ 2
im Mikro-Neutralisationstest

Personengruppe	n	keine HSV-Antikörper	p	Δ pN < 0,50	p	$\overline{m}$ pN Typ 1	p	$\overline{m}$ pN Typ 2	p	$\overline{m}$ Δ pN	p
Lues-seronegativ	100	21	<0,001	28	<0,025	2,67	<0,4	2,09	<0,01	+0,57	<0,02
Lues-seropositiv	100	3		53	>0,005	2,72	>0,3	2,24	>0,001	+0,47	>0,01

Tab. 5

Antikörper gegen Herpes simplex Virus Typ 1 und Typ 2
bei Männern und Frauen

Personengruppe		n	keine HSV-Antikörper	Δ pN $< 0{,}50$	$\bar{m}$ pN Typ 1	$\bar{m}$ pN Typ 2	$\bar{m}$ Δ pN
Frauen	Lues-seronegativ	45	11	12	2,69	2,09	0,60
	Lues-seropositiv	45	2	26	2,77	2,31	0,46
Männer	Lues-seronegativ	55	10	16	2,63	2,08	0,55
	Lues-seropositiv	55	1	27	2,70	2,22	0,48

Tab. 6 Anzahl der Seren mit pN-Differenzen $< 0{,}5$ bei Frauen in Abhängigkeit vom Alter

Altersgruppe	Lues - Seroreaktionen	
	positiv	negativ
15-24 Jahre	3/7 (43)+	1/7 (14)
25-34 Jahre	6/11 (55)	2/11 (18)
35-44 Jahre	6/11 (55)	2/11 (18)
$\geq$ 45 Jahre	11/16 (69)	7/16 (44)
gesamt	26/45 (58)	12/45 (27)

+In Parenthese Angaben in Prozent

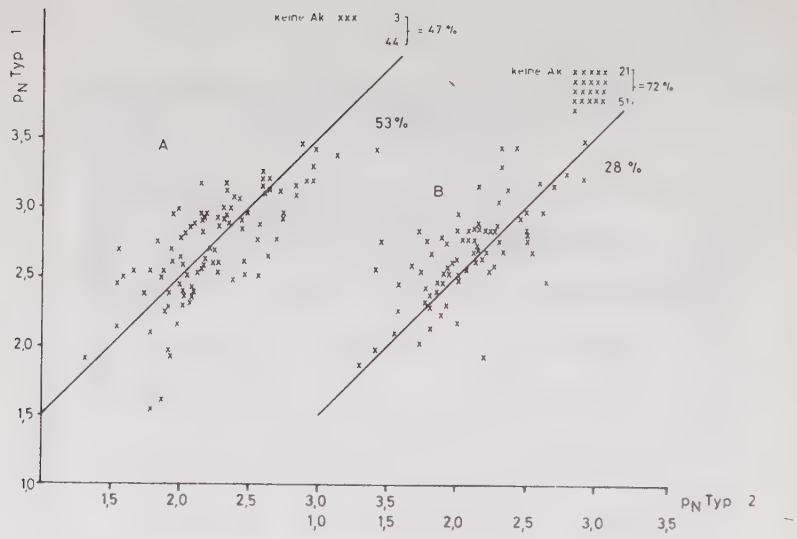

Abb 1. Antikörper gegen Herpes simplex Virus Typ 1 und Typ 2 bei Lues-seropositiven (A) und Lues-seronegativen Personen (B)

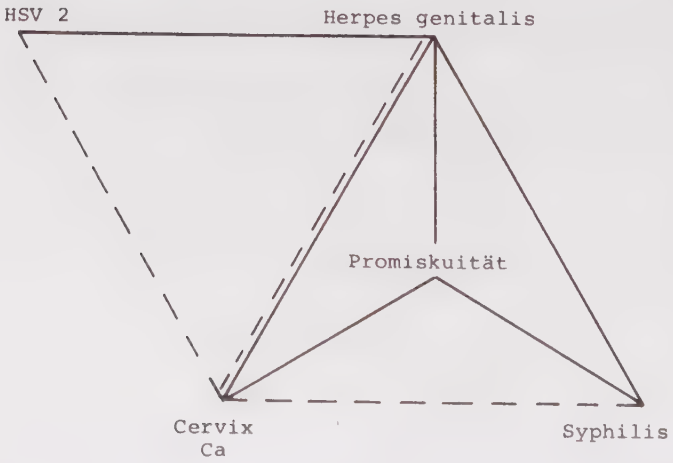

Abb. 2 Korrelationen der drei Erkrankungen Herpes genitalis, Syphilis und Cervixcarcinom

8. LITERATUR-VERZEICHNIS

BELOTE, G. H., ARBOR, A.: The association of cancer and syphilis as determined by positive serology. Am.J.Syph. 15: 372-375 (1931)

BERNSTEIN, M. T., STEWART, J. A.: Method für typing antisera to herpesvirus hominis by indirect hemagglutination inhibition. Appl.Microbiol. 21: 680-684 (1971)

DOWDLE, W. R., NAHMIAS, A. J., HARWELL, R. W., PAULS, F. P.: Association of antigenic type of herpesvirus hominis with site of viral recovery. J. Immunol. 99: 974-980 (1967)

DUENAS, A., ADAM, E., MELNICK, J. L., RAWLS, W. E.: Herpesvirus type 2 in a prostitute population. Amer.J.Epidemiol. 95: 483-489 (1972)

DUFF, R., RAPP, F.: Oncogenic transformation of hamster-cells after exposure to herpes simplex virus type 2. Nature, New Biol. 233: 48-50 (1971)

FAZEKAS DE ST. GROTH, S.: Evaluation of quantal neutralization tests. Nature 191: 891-893 (1961)

FUCCILLO, D. A., MODER, F. L., CATALANO, L. W. Jr., SEVER, J. L. Herpesvirus hominis types 1 and 2: a specific microindirect hemagglutination test. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 133: 735-739, (1970)

HARDING, G. W.: The influence of syphilis in cancer of the cervix uteri. Cancer Res. 2: 59-61 (1942)

HUTFIELD, D. C.: History of herpes genitalis. Brit.J.Vener.Dis. 42: 263-268 (1966)

JOSEY, W. E., NAHMIAS, A. J., NAIB, Z. M.: Genital infection with type 2 herpesvirus hominis: Present knowledge and possible relation to cervical cancer. Am.J.Obstet.Gyn. 101: 718-729 (1968)

JOSEY, W. E., NAHMIAS, A. J., NAIB, Z. M.: The epidemiology of type 2 (genital) herpes simplex virus infection. Obstet.Gyn. Survey 27: 295-302 (1972)

LAITINEN, H.: Über die Korrelation zwischen Syphilis und Krebs. Acta Soc.Med.Fenn. "Duodecim" 34 B: 111-215 (1945)

LEVIN, M. L., KRESS, L. C., GOLDSTEIN, H.: Syphilis and cancer. New York State J. Med. 42: 1737-1745 (1942)

LIPSCHÜTZ, B.: Untersuchungen über die Aetiologie der Krankheiten der Herpesgruppe (Herpes zoster, Herpes genitalis, Herpes febrilis). Arch.Derm.Syph. (Berl.) 136: 428-482 (1921)

LOMBARD, H. L., POTTER, E. A.: Epidemiological aspects of cancer of the cervix. Cancer 3: 960-968 (1950)

MUNOZ, N.: Effect of herpesvirus type 2 and hormonal imbalance on the uterine cervix of the mouse. Cancer Res. 33: 1504-1508 (1973)

NAHMIAS, A. J.,DOWDLE, W.R.: Antigenic and biologic differences in herpesvirus hominis. Progr. Med. Virology 10: 110-159 (1968)

NAHMIAS, A. J., DOWDLE, W. R., NAIB, Z. M., JOSEY, W. E., McLONE, D., DOMESCIC, G.: Genital infection with type 2 herpesvirus hominis - a commonly occuring venereal disease. Brit.J.Vener.Dis. 45: 294-298 (1969 (a))

NAHMIAS, A. J., DOWDLE, W. R., KRAMER, J. H., LUCE, C. F., MANSOUR S. C.: Antibodies to herpesvirus hominis types 1 and 2 in the rabbit. J.Immunol. 102: 956-962 (1969 (b))

NAHMIAS, A. J., DOWDLE, W. R., JOSEY, W. E., NAIB, Z. M., PAINTER, L. M., LUCE, C. F.: Newborn infection with herpesvirus hominis types 1 and 2. J.Pediat. 75: 1194-1203 (1969 (c))

NAHMIAS, A. J., JOSEY, W. E., NAIB, Z. M., LUCE, C. F., DUFFEY, A.: Antibodies to herpesvirus hominis types 1 and 2 in humans. I. Patients with genital herpetic infections. Amer.J.Epidem. 91: 539-546 (1970 (a))

NAHMIAS, A. J., JOSEY, W. E., NAIB, Z. M., LUCE, C. F., GUEST, B. A.: Antibodies to herpesvirus hominis types 1 and 2 in humans. II. Women with cervical cancer. Amer.J.Epidem. 91: 547-552 (1970 (b))

NAHMIAS, A. J., NAIB, Z. M., JOSEY, W. E.: Herpesvirus hominis type 2 infection - association with cervical cancer and perinatal disease. Persp.in Virol. 7: 73-89 (1971)

NAIB, Z. M., NAHMIAS, A. J., JOSEY, W. E., KRAMER, J. H.: Genital herpetic infection - association with cervical dysplasia and carcinoma. Cancer 23: 940-945 (1969)

PARKER, J. D. J., BANATVALA, J. E.: Herpes genitalis - clinical and virological studies. Brit.J.Vener.Dis. 43: 212-216 (1967)

PAULS, F. P., DOWDLE, W. R.: A serological study of herpesvirus hominis by microneutralization tests. J.Immunol. 98: 941-947 (1967)

PETERSEN, E. E., Böcker, J. F., Fürmaier, I., Hillemanns, H. G.: Herpes-simplex-Virus Typ 2: seine Verbreitung und seine Beziehung zum Zervixkarzinom. Deutsch.Med.Wschr. 97: 1936-1942 (1972)

PLUMMER, G.: Serological comparison of the herpes viruses. Brit.J.Exp.Path. 45: 135-141 (1964)

RAWLS, W. E., TOMPKINS, W. A. F., FIGUEROA, M. E., MELNICK, J. L.: Herpesvirus type 2: association with carcinoma of the cervix. Science 161: 1255-1256 (1968)

RAWLS, W. E., TOMPKINS, W. A. F., MELNICK, J. L.: The association of herpesvirus type 2 and carcinoma of the uterine cervix. Amer.J.Epidem. 89: 547-554 (1969)

RAWLS, W. E., IWAMOTO, K., ADAM, E., MELNICK, J. L.: Measurement of antibodies to herpesvirus types 1 and 2 in human sera. J.Immunol. 104: 599-606 (1970)

RAWLS, W. E., GARDNER, H. L., FLANDERS, R. W., LOWRY, S. P., KAUFMAN, R. H., MELNICK, J. L.: Genital herpes in two social groups. Am.J.Obst.Gyn. 110: 682-689 (1971)

REED, L. J., MUENCH, H.: A simple method of estimating fifty per cent endpoints. Amer.J.Hyg. 27: 493-497 (1938)

RØJEL, J.: The interrelation between uterine cancer and syphilis. A pathodemographic study. Acta Pathol.Microbiol.Scand. 97: (Suppl.) 1-82 (1953)

ROSENBAUM, M. J., PHILLIPS, I. A., SULLIVAN, E. J., EDWARDS, E. A., MILLER, E. F.: A simplified method for virus-tissue culture procedures in microtitration plates. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 113: 224-229 (1963)

ROTKIN, J. D.: A comparison review of key epidemiological studies in cervical cancer related to current searches for transmissible agents. Cancer Res. 33: 1353-1367 (1973)

ROYSTON, I., AURELIAN, L., DAVIS, H. J.: Genital herpes virus findings in relation to cervical neoplasia. J. Reprod.Med. 4: 9-13 (1970 (a))

ROYSTON I., AURELIAN, L.: Association of genital herpesvirus with cervical atypia and carcinoma in situ. Amer.J.Epidem. 91: 531-538 (1970 (b))

SCHNEWEIS, K. E., BRANDIS, H.: Typendifferenzen beim Herpes simplex Virus. Zbl.Bakt. I. Abt.Orig. 183: 556-558 (1961)

SCHNEWEIS, K. E.: Serologische Untersuchungen zur Typendifferenzierung des Herpesvirus hominis. Z.Immun.Forsch. 124: 24-48 (1962 (a))

SCHNEWEIS, K. E.: Der cytopathische Effekt des Herpes simplex Virus. Stammdifferenzen, Stabilität, Einfluß von Immunseren und Beziehungen zur Pockengröße. Zbl.Bakt. I. Abt.Orig. 186: 467-494 (1962 (b))

SCHNEWEIS, K. E.: Zum antigenen Aufbau des Herpes simples Virus. Z.Immun.Forsch. 124: 173-196 (1962 (c))

SCHNEWEIS, K. E.: Die Typen 1 und 2 des Herpes simplex Virus bei verschiedenen Krankheitsbildern. Dtsch.Med.Wschr. 92: 2313-2314 (1967)

SCHNEWEIS, K. E., NAHMIAS, A. J.: Antigens of Herpes simplex virus type 1 and 2 - immunodiffusion and inhibition passive hemagglutination studies. Z.Immun.Forsch. 141: 471-487 (1971)

SCHNEWEIS, K. E.: Besteht ein kausaler Zusammenhang zwischen Herpes genitalis und Collum-Carcinom? Gynäkologe 7: 190-194 (1974 (a))

SCHNEWEIS, K. E., HAAG, A., LEHMKÖSTER, A., KOENIG, U.: Sero-immunological investigations in patients with cervical cancer: Higher rate of herpes simplex virus type 2 antibodies than in syphilis patients and evidence of Ig M-antibodies to an early herpes simplex virus type 2 antigen. Oncogenesis and Herpesviruses II, Part 2, page 52-57 Int.Agency for Research on Cancer Lyon, (1975)

SCHULTE-HOLTHAUSEN, H., SCHNEWEIS, K. E.: Differentiation of Herpes Simplex Virus Serotypes 1 and 2 by DNA - DNA Hybridization. Med. Microbiol. Immunol. 161: 279-285 (1975)

SEVER, J. L.: Application of a microtechnic to viral serological investigations. J.Immunol. 88: 320-329 (1962)

SMITH, I. W., PEUTHERER, J. F.: The incidence of herpesvirus hominis antibody in the population. J.Hyg. (Camb.) 65: 395-408 (1967)

LEBENSLAUF

Am 2. 7. 1948 wurde ich, Arnim Haag, als Sohn des Landwirtschaftsdirektors Dr. Karl Haag und seiner Ehefrau Lieselotte geb. Homberg in Bonn geboren. Nach dem Besuch der Volksschule in Bonn und Bergisch-Gladbach wurde ich in das naturwissenschaftliche Nicolaus-Cusanus-Gymnasium in Bergisch-Gladbach aufgenommen, wo ich am 5. 7. 1967 die Reifeprüfung bestand. Im Oktober 1967 nahm ich das Studium der Zahnmedizin an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität in Bonn auf. Zum Wintersemester 1968 erfolgte die Zweiteinschreibung in die Medizin. Das medizinische Staatsexamen bestand ich am 7. 2. 1974. Von Juli bis Dezember 1974 arbeitete ich als Medizinalassistent in der Kieferchirurgie der Universitätskliniken Bonn. Am 28. 4. 1975 erhielt ich die Approbation als Zahnarzt. Seit dem 1. 1. 1976 bin ich als Medizinalassistent in der Chirurgischen Universitätsklinik Bonn tätig.